

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 08-239379

(43)Date of publication of application : 17.09.1996

(51)Int.Cl.

C07D309/32
A61K 31/365
C12P 17/06
//(C12P 17/06
C12R 1:465)

(21)Application number : 07-044566

(71)Applicant : KIRIN BREWERY CO LTD

(22)Date of filing : 03.03.1995

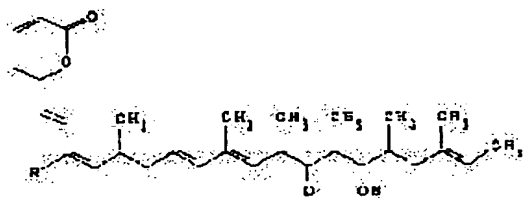
(72)Inventor : SETO HARUO
HAYAKAWA YOICHI

(54) KR 2827 DERIVATIVE AS NEW SUBSTANCE, ITS PRODUCTION AND USE

(57)Abstract:

PURPOSE: To obtain KR2827 derivative as a new antitumor substance having strong antitumor action and useful as an antitumor agent, etc., by culturing the bacterial strains belonging to the genus *Streptomyces* and having ability to produce KR2827 and collecting the product from the cultured product.

CONSTITUTION: This KR2827 derivative as a new substance is expressed by the formula, has strong antitumor, exhibits proliferation suppressing action on a tumor cell, is useful as an active ingredient for antitumor agent and is an analogue of leptomycin B. The new substance is obtained by inoculating one platinum loop of bacterial strains [e.g. *Streptomyces* sp. R2827-2 strain (FERM BP5018)] belonging to the genus *Streptomyces* and having ability to produce KR2827 derivative into a culture medium by slant, carrying out shake culture of the bacterial strains at 27° C for 3 days to afford a seed bacterium, adding the seed bacterium to a jar fermentor culture medium, carrying out aerating cultivation at 27° C for 4 days to produce the derivative and collecting a product from the cultured product.



LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

BEST AVAILABLE COPY

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision
of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's
decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平8-239379

(43) 公開日 平成8年(1996)9月17日

(51) Int.Cl. ⁶	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
C 0 7 D 309/32			C 0 7 D 309/32	
A 6 1 K 31/365	ADU		A 6 1 K 31/365	ADU
C 1 2 P 17/06			C 1 2 P 17/06	
// (C 1 2 P 17/06				
C 1 2 R 1:465)				

審査請求 未請求 請求項の数3 O L (全 11 頁)

(21) 出願番号 特願平7-44566

(22) 出願日 平成7年(1995)3月3日

(71) 出願人 000253503

麒麟麦酒株式会社

東京都中央区新川二丁目10番1号

(72) 発明者 瀬戸 治 男

東京都八王子市上野町100

(72) 発明者 早川 洋 一

千葉県柏市新富町2-6-57

(74) 代理人 弁理士 佐藤 一雄 (外2名)

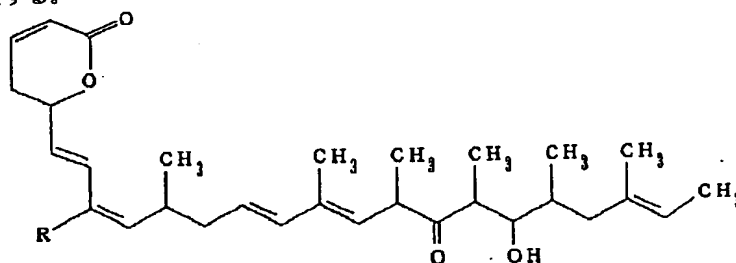
(54) 【発明の名称】 新規物質KR2827誘導体、その製造法および使用

(57) 【要約】

【目的】 抗腫瘍作用を有する新規な化合物、その製造法およびその用途を提供する。

* 【構成】 次式 (I) で示される、KR2827誘導体 (KR2827CおよびKR2827D)。

【化1】



(式中、Rはメチル基またはエチル基を表す)
ストレプトミセス属に属しKR2827誘導体の生産能を有する菌株を培養して該誘導体を産生させ、その培養物よりKR2827誘導体を採取することを特徴とす

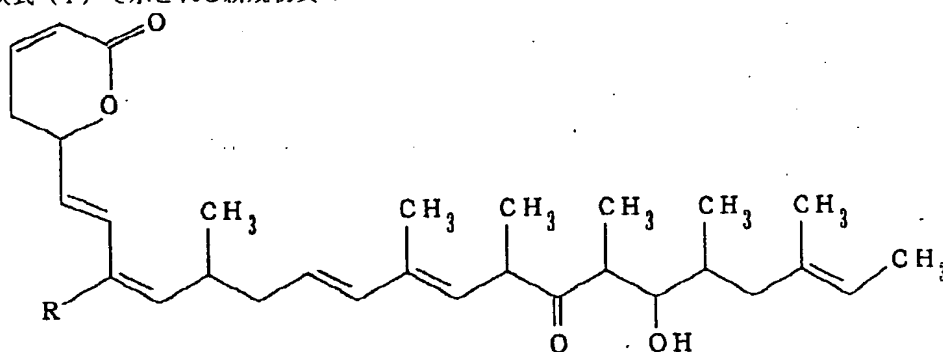
る、上記式 (I) で示される化合物の製造法。上記式 (I) で示される化合物を有効成分として含んでなる抗腫瘍剤。上記のKR2827誘導体は強い抗腫瘍作用を有している。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 次式 (I) で示される新規物質 KR 282 *

* 7 誘導体。

【化 1】



(式中、Rはメチル基またはエチル基を表す)

【請求項 2】 ストレプトミセス属に属し KR 2827 誘導体の生産能を有する菌株を培養して該誘導体を産生させ、その培養物より KR 2827 誘導体を取り出すことを特徴とする、請求項 1 記載の化合物の製造法。

【請求項 3】 請求項 1 記載の化合物を有効成分として含んでなる抗腫瘍剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】 【発明の背景】

【産業上の利用分野】 本発明は新規物質に、更に詳しくはストレプトミセスに属する菌株 KR 2827-2 株によって生産される抗腫瘍性を有する新規物質 KR 2827 誘導体、その製造法および使用に関する。

【0002】

【従来の技術】 抗腫瘍物質に関してはすでに多数のものが医薬として実用化されている。また、本発明化合物に関連する物質として特開昭 63-203676 号公報 ※30

※に、レプトマイシン B の類似体である KR 2827 (A および B) が開示されている。一般に化学物質の生理活性はその化学構造に依存するところが大きいので、抗腫瘍性を有する新規な化合物に関しては不断の希求があるといえよう。

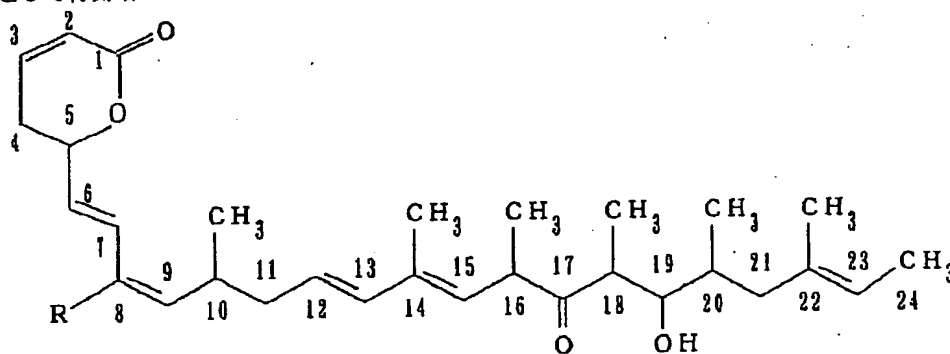
【0003】 【発明の概要】

20 【発明が解決しようとする課題】 本発明は、抗腫瘍作用を有する新規な化合物を提供することを目的とするものである。

【0004】

【課題を解決するための手段】 本発明者らは、土壌から分離したストレプトミセス・エスピー R 2827-2 株の培養物から、抗腫瘍作用を有する新規物質 KR 2827 誘導体を見出し、この知見をもとに本発明を完成させるに至った。すなわち、本発明による新規化合物 KR 2827 誘導体は次式 (I) で示されるものである。

【化 2】



(式中、Rはメチル基またはエチル基を表す)

また、本発明による上記化合物の製造法は、ストレプトミセス属に属し KR 2827 誘導体の生産能を有する菌株を培養して該誘導体を産生させ、その培養物より KR 2827 誘導体を取り出すことを特徴とするものである。本発明はまた、この化合物の使用 (抗腫瘍剤) にも関する。すなわち、本発明による抗腫瘍剤は、上記化合物を有効成分として含んでなるものである。

【0005】 【発明の具体的説明】

KR 2827 誘導体

1) 定義

本発明による新規物質 KR 2827 誘導体は、前記の式 (I) で表される。R の種類によって本発明は 2 種類存在する。本明細書では、R がメチル基であるものを KR 2827 C、また R がエチル基であるものを KR 2827 D と呼ぶものとする。

2) 化学構造

50 本発明による新規物質 KR 2827 誘導体 (KR 282

7CおよびKR2827D)は、式(1)で示される化学構造を有するが、これらの化学構造は、各種機器分析スペクトルにより決定されたものである。

3) 物理化学的性状

*第1表は、本発明KR2827誘導体である化合物KR2827CおよびKR2827Dの物理化学的性状を示すものである。

【表1】

第1表 KR2827C、KR2827Dの物理化学的性状

項目	KR2827C	KR2827D
外観	無色油状	無色油状
比旋光度 (19℃) メタノール中	-128° (c0.5)	-135° (c0.5)
溶解性	メタノール、エタノール アセトン、ヘキサン、酢酸エチル、クロロホルムに可溶 水に難溶	メタノール、エタノール アセトン、ヘキサン、酢酸エチル、クロロホルムに可溶 水に難溶
FABマスペクトル	実測値 483.3437 (M+H) ⁺ 計算値 483.3474	実測値 497.3604 (M+H) ⁺ 計算値 497.3631
分子式	C ₃₁ H ₄₆ O ₄	C ₃₂ H ₄₈ O ₄
紫外吸収スペクトル λ _{max} (ε) メタノール中	第1図 241nm (30、400)	第2図 241nm (32、400)
赤外吸収スペクトル (KBrディスク法)	第3図	第4図
プロトン核磁気共鳴スペクトル (500MHz、重加水素中)	第5図	第6図
炭素13核磁気共鳴スペクトル (125MHz、重加水素中)	第7図	第8図

第2表は、本発明化合物の構造決定の根拠となったKR2827CおよびKR2827Dの炭素13核磁気共鳴スペクトルのシグナルの帰属を示すものである。

第2表 KR2827CとKR2827Dの炭素13核シグナルの帰属

炭素核	KR2827C (ppm)	KR2827D (ppm)
1	163.9	164.0
2	121.5	121.6
3	144.7	144.7
4	29.9	30.0
5	78.5	78.8
6	125.3	124.7
7	130.6	129.9
8	129.3	135.4
9	138.9	137.1
10	32.1	32.1

11	40.6	40.7
12	127.5	127.6
13	135.3	135.4
14	136.1	136.1
15	128.3	128.3
16	45.5	45.6
17	215.5	215.6
18	46.5	46.5
19	74.2	74.3
20	33.1	33.1
21	44.0	44.1
22	133.9	133.9
23	120.3	120.4
24	13.2	13.4
8-メチル	20.2	—
8-エチル	—	26.3, 13.4
10-メチル	20.6	20.7
14-メチル	12.9	13.0
16-メチル	16.1	16.2
18-メチル	12.2	12.2
20-メチル	13.9	14.0
22-メチル	15.2	15.2

【0006】KR2827誘導体の製造

概要

本発明によるKR2827誘導体(KR2827CおよびKR2827D)は現在のところ微生物の培養によってのみ得られているが、類似化合物の合成化学的修飾または微生物学的修飾によって製造することも、あるいは全合成化学的に製造するものできよう。微生物の培養による場合の菌株としてはストレプトミセス属に属するKR2827C、あるいはKR2827D生産能を有するものが使用される。具体的には、本発明者らの分離したストレプトミセス・エスピーR2827-2株(*Streptomyces sp.* KR2827-2)が、KR2827CおよびKR2827Dを生産することが本発明者らによって明らかにされている。その他の菌株については、抗生物質生産菌単離の常法によって適当なものを自然界より分離することが可能である。また、ストレプトミセス・エスピーR2827-2株を含めてKR2827CあるいはKR2827Dの生産菌を放射線照射その他の変異処理に付して、KR2827CあるいはKR2827Dの生産能を高める余地も残されている。更にまた、遺伝子工学の発達した現在、このR2827-2株のKR2827誘導体の合成に関与する遺伝子を導入した他の微生物によるKR2827誘導体の生産も可能である。

【0007】KR2827-2株

KR2827CおよびKR2827D生産能を有するストレプトミセス属の菌株として、本発明者らの見出して

いるR2827-2株は、下記の内容のものである。

1) 由来及び寄託番号

R2827-2株は群馬県高崎市宮原町で採取した土壌より分離されたものであり、平成7年2月24日に工業技術院生命工学工業技術研究所に寄託されてFERMBP-5018の番号を得ている。

2) 菌学的性状

KR2827-2株の菌学的性状は、以下の通りである。

(1) 形態

よく分枝した基生菌糸から気菌糸は単純分枝する。その先端は波状、かぎ状、あるいは不完全ならせん状を呈するが、シュクロース/硝酸塩寒天培地上ではらせん状のものも多く観察される。電子顕微鏡下では孢子鎖は10~15個の連鎖をなし、孢子表面は平滑で、形は円筒形または楕円形、大きさは0.7~0.9×0.9~1.3μmである。孢子のう、鞭毛孢子、菌核などの特殊形態は認められない。

(2) 各種培地の生育状態

KR2827-2株を各種培地に摂氏27度、3週間培養した結果は、第3表に示す通りである。

(3) 生理的性質

R2827-2株の生理的性質は、第4表に示す通りである。

【表2】

第3表

培地	生育	気菌糸	裏面色	可溶性色素
シクロース/硝酸塩 寒天培地	貧弱 黄味白	貧弱、粉状 ピンク味白	黄味白 ～うすピンク	なし
グルコース/アスパギン 寒天培地	中程度 暗い茶紫	中程度、粉状、 茶味灰～ 明るい茶味灰	暗い茶紫	なし
グリセロール/アスパギン 寒天培地	中程度 暗い茶紫	中程度、粉状、 茶味灰～ ピンク味白	灰味赤茶	なし
スターチ無機塩寒天培地	中程度 暗い黄味茶	中程度、粉状 明るい茶味灰	暗い黄味茶 ～にぶ茶	なし
チロシン寒天培地	良好 暗い赤味茶	豊富、粉状 茶味灰～ ピンク味白	赤味茶	なし
栄養寒天培地	貧弱 うす黄味茶	なし	うす黄味茶	なし
イースト/麦芽寒天培地	良好 暗い赤味橙	豊富、粉状 灰味茶	暗い赤味橙	なし
オートミール寒天培地	中程度 暗い赤味橙	貧弱、粉状 うすピンク	暗い赤味橙	なし

第4表

生育温度範囲	摂氏20～37度
メラニン様色素	
チロシン寒天培地	陰性
ペプトン/イースト/鉄寒天培地	陰性
トリプトン/イースト液体培地	陰性
スターチの加水分解	陽性
ゼラチンの液化	弱い陽性
脱脂乳の凝固	陰性
脱脂乳のペプトン化	陽性
硝酸塩の還元能	陰性

(4) 炭素源の利用性

リーブ寒天培地上)は、第5表に示す通りである。

R2827-2株の炭素源の利用能(ブリドハム/ゴト

第5表

D-グルコース	+
L-アラビノース	+
シュクロース	±
D-キシロース	±
D-イノシトール	-
D-マンニトール	-
D-フラクトース	+
ラムノース	-
ラフィノース	-
セルロース	-
D-マンノース	+
トレハロース	+
メリビオース	-
D-リボース	+
サリシン	-

+: 利用する、±: 利用が疑わしい、-: 利用しない

(5) ジアミノピメリン酸の分析

細胞壁構成アミノ酸の一つであるジアミノピメリン酸を分析した結果、LL-ジアミノピメリン酸が検出された。以上の菌学的性状から、R2827-2株はストレプトミセス属に属すると判断され、以下のような特徴を有する。

(イ) 気菌糸は波状、かぎ状、あるいは不完全ならせん状ないしらせん状を呈し、胞子は円筒形あるいは楕円形でその表面は平滑である。

(ロ) 種々の培地で、ピンク味白～茶味灰の気菌糸を形成する。

(ハ) 裏面の色は、茶紫～黄味茶～赤味茶～暗い赤味橙である。

(ニ) 可溶性色素およびメラニン様色素を生成しない。
以上の結果から、本発明者らはKR2827-2株をストレプトミセス・エスピーR2827-2 (*Streptomyces sp.* R2827-2) と命名する。

【0008】培養/KR2827誘導体の生産

本発明によるKR2827誘導体 (KR2827Cおよ

びKR2827D) は、ストレプトミセス属に属するKR2827誘導体生産菌を適当な培地で好氣的に培養し、培養物から目的物を採取することによって製造することができる。培地は、KR2827誘導体生産菌が利用しうる任意の栄養源を含有するものでありうる。具体的には例えば、炭素源としてグルコース、シュクロース、マルトース、スターチおよび油脂類などが使用でき、窒素源として大豆粉、綿実粕、乾燥酵母、酵母エキスおよびコーンステーパーリカーなどの有機物ならびにアンモニウム塩または硝酸塩、たとえば硫酸アンモニウム、硝酸ナトリウムおよび塩化アンモニウムなどの無機物が利用できる。また必要に応じて、塩化ナトリウム、塩化カリウム、燐酸塩、重金属塩など無機塩類を添加することができる。発酵中の発泡を抑制するために、常法に従って適当な消泡剤、たとえばシリコン油を添加することもできる。培養方法は、一般に行われている抗生物質の生産方法と同じく、好氣的液体培養法が最も適している。培養温度は、摂氏20～37度が最も適当であるが、摂氏25～30度が好ましい。この方法でKR2

827CおよびKR2827Dの生産量は、振盪培養、通気攪拌培養共に培養5日間で最高に達する。このようにしてKR2827誘導体(KR2827CおよびD)の蓄積された培養物が得られる。培養物中では、KR2827誘導体はその一部は培養濾液中に存在するが、その大部分は菌体中に存在する。このような培養物からKR2827誘導体採取するには、合目的な任意の方法が利用可能である。その一つの方法は抽出の原理に基づくものであって、具体的には、たとえば培養液中のKR2827誘導体については、これをKR2827誘導体用溶媒(前記参照)、例えば酢酸エチルなどで抽出する方法、あるいは菌体内のKR2827誘導体については濾過、遠心分離などで得た菌体集合体をメタノール、エタノール、アセトンで処理して回収する方法などがある。菌体を分離せずに培養物そのままを上記抽出操作に付すこともできる。適当な溶媒を用いた向流分配法も抽出の範囲に入れることができる。培養物からKR2827誘導体採取する他の一つの方法は、吸着の原理に基づくものであって、すでに液状になっているKR2827誘導体含有物、例えば培養濾液、あるいは上記のようにして抽出操作を行うことによって得られる抽出液を対象として、適当な吸着剤、例えばシリカゲル、活性炭、ダイヤイオンHP20(三菱化学社製)などを用いて目的のKR2827誘導体を吸着させ、その後、適当な溶媒にて溶離させることによりKR2827誘導体溶液(KR2827CおよびD)を得ることができる。この様にして得られたKR2827誘導体溶液を減圧濃縮し乾固すれば、KR2827CおよびDの粗標品が得られ*

第6表 各種癌遺伝子で形質転換させた細胞に対する増殖抑制活性

細胞	癌遺伝子	KR2827C IC ₅₀ (ng/ml)	KR2827D IC ₅₀ (ng/ml)
HR-3Y1	v-H-ras	1.2	1.3
SR-3Y1	v-src	1.7	2.0
SV-3Y1	SV40	0.66	0.66
Ad12-3Y1	Adenovirus	1.1	1.0
E1A-3Y1	Ad12E1A	0.46	0.42

(2) 抗腫瘍剤

このように本発明のKR2827誘導体は、動物の腫瘍、特に悪性腫瘍(癌化した線維芽細胞など)に対して抗腫瘍性を示す事が明らかにされた。したがって、本発明化合物は、抗腫瘍剤ないし腫瘍治療剤として用いることができる。抗腫瘍剤としての本発明化合物は合目的な任意の投与経路で、または採用投与経路によって決まる剤型で、投与することができる。薬剤としては、製薬上許容される担体ないし希釈剤で希釈された形態が普通である。薬剤の形態としては、具体的には、注射剤、懸濁剤、錠剤、顆粒剤、散剤、カプセル剤、軟膏剤、クリ

*る。このようにして得られるKR2827誘導体粗標品をさらに精製するためには、上記の抽出法および吸着法にゲル濾過法、高速液体クロマトグラフィーなどを必要に応じて組み合わせて必要回数行えば良い。たとえば、シリカゲルなどの吸着剤、セファデックスLH20(ファルマシア社製)などのゲル濾過剤を用いたカラムクロマトグラフィー、YMCバック(山村化学社製)などを用いた高速液体クロマトグラフィーを適宜組み合わせて実施することができる。具体的には、例えば、KR2827誘導体粗標品を少量のメタノールに溶解し、セミ分取用高速液体クロマトグラフィー(山村化学社製「YMCバックD-ODS-7」)に付し、メタノール-水(4:1)で展開する。各ピークを分取し、それぞれを凍結乾燥するとKR2827CおよびKR2827Dの純品が得られる。

【0009】KR2827誘導体の用途

本発明による化合物KR2827CおよびKR2827Dは、抗腫瘍活性を有するという点で有用である。

(1) 生物活性

KR2827CおよびKR2827Dは、腫瘍細胞に対して増殖抑制活性を示した。例えばラット正常線維芽細胞3Y1を各種癌遺伝子で形質転換させた細胞を、10%熱非飢仔牛血清および0.1%グルコースを含むダルベッコ変法イーグル培地中において、種々の濃度のKR2827CおよびKR2827Dとともに、摂氏37度で3日間培養した後のIC₅₀値(ng/ml)は、第6表に示す通りであった。

【表3】

各種癌遺伝子で形質転換させた細胞に対する増殖抑制活性

ーム剤等がありうる。また、担体あるいは希釈剤の具体例としては通常用いられる溶剤(生理食塩水など)、可溶化剤(ポリソルベートなど)、等張化剤(果糖など)、保存剤(安息香酸など)、抗酸化剤(トコフェロールなど)、賦形剤(アラニンなど)、結合剤(ヒドロキシプロピルセルロースなど)、滑沢剤(ステアリン酸マグネシウムなど)、安定剤(デキストランなど)があげられる。抗腫瘍剤として本発明化合物を実際に投与する場合には、これを注射用蒸留水または生理食塩水などに溶解して注射する方法が代表的なものの一つとして挙げられる。具体的には、動物の場合は、腹腔内注射、皮

13

下注射、静脈または動脈への血管内注射および局所投与などの注射による方法が、ヒトの場合は、静脈または動脈への血管内注射および局所投与などの注射による方法がある。また動物の場合もヒトの場合も経口での投与（上記錠剤、顆粒剤、カプセル剤など）も可能である。本発明の化合物の投与量は、動物試験の結果および種々の状況を勘案して、連続的または間欠的に投与したときに総投与量が一定量を越えないように定められる。具体的な投与量は、投与方法、患者または被処理動物の状況、例えば年齢、体重、性別、感受性、食餌、投与時間、併用する薬剤、患者またはその病気の程度に応じて変化することは言うまでもなく、また一定条件のもとにおける適量と投与回数は、上記指針を基として専門医の適量決定試験によって決定されねばならない。具体的には、成人1日あたり2~100mg程度、好ましくは10~50mg程度を1~10回程度分割して投与することが望ましい。

【0010】

【実施例】

(1) 種母の調製

使用した培地は、下記の組成の成分を1リットルの水に溶解してpH7.2に調整したものである。

可溶性デンプン	10g
廃糖蜜	10g
ポリペプトン	10g
肉エキス	10g

上記培地100mlを500mlのイボ付三角フラスコへ分注し、殺菌後、ストレプトミセス・エスピーR2827-2株をスラントより1白金耳接種し、摂氏27度にて3日間振盪培養したものを種母とした。

(2) 培養

使用した培地は、下記の組成の成分1リットルの水に溶解して、pH7.2に調整したものである。

グリセロール	25g
廃糖蜜	10g
カゼイン	5g
ポリペプトン	1g
炭酸カルシウム	4g

上記培地を30リットルずつ50リットル容ジャーファーマンターに分注殺菌したものへ、上記種母600mlを添加し、摂氏27度にて4日間、200rpm、30リットル/分の通気攪拌培養を行った。

(3) KR2827誘導体の採取

14

上記条件での培養後、培養液（60リットル）を濾過し、菌体を20リットルのアセトンで抽出した。抽出液を濃縮後（1リットル）、1リットルの酢酸エチルで2回抽出し、濃縮乾固した。これを100mlのクロロホルムに溶解し不溶物を除いた後、シリカゲル（和光純薬製「ワコーゲルC200」）のカラム（直径6cm×長さ50cm）に吸着させ、ヘキサン-酢酸エチル（2:1）で溶出させた。活性フラクションを濃縮し、セファデックスLH-20（ファルマシア社製）のカラム（直径2cm×長さ50cm）に付し、メタノールで展開した。得られた活性フラクションを濃縮後、セミ分取用高速液体クロマトグラフィー（山村化学社「YMCバックD-ODS-7」、直径2cm×30cm）に付し、メタノール-水（4:1）、流速19.8ml/minで展開した。保持時間24.4分および32.9分のピークを分取し、濃縮乾固すると無色油状のKR2827C（80mg）およびKR2827D（56mg）を得た。

【0011】

【発明の効果】本発明によるKR2827誘導体（すなわち、KR2827CおよびKR2827D）は強い抗腫瘍作用を有している。

【図面の簡単な説明】

【図1】KR2827Cのメタノール中（20μg/ml）での紫外吸収スペクトルを模写したもの。

【図2】KR2827Dのメタノール中（20μg/ml）での紫外吸収スペクトルを模写したもの。

【図3】KR2827CのKBrディスク法による赤外吸収スペクトルを模写したもの。

【図4】KR2827DのKBrディスク法による赤外吸収スペクトルを模写したもの。

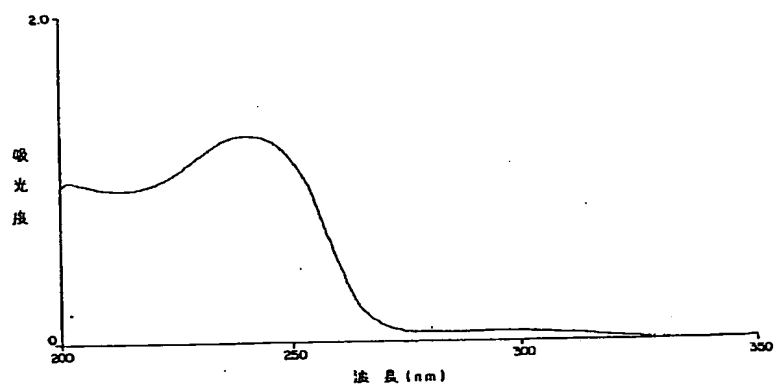
【図5】KR2827Cの重クロロホルム中における500メガヘルツプロトン核磁気共鳴スペクトルを模写したもの。

【図6】KR2827Dの重クロロホルム中における500メガヘルツプロトン核磁気共鳴スペクトルを模写したもの。

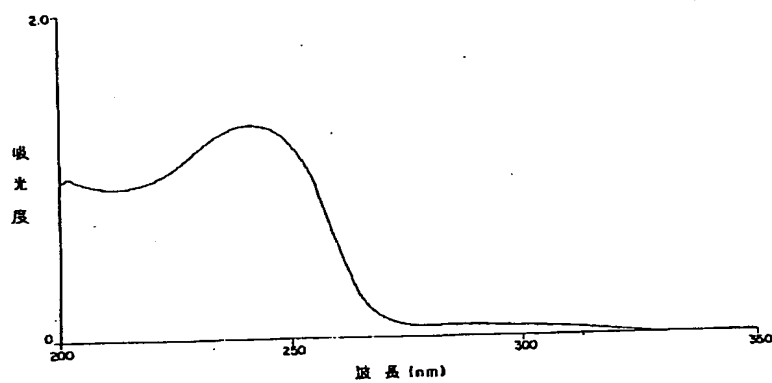
【図7】KR2827Cの重クロロホルム中における125メガヘルツ炭素13核磁気共鳴スペクトルを模写したもの。

【図8】KR2827Dの重クロロホルム中における125メガヘルツ炭素13核磁気共鳴スペクトルを模写したもの。

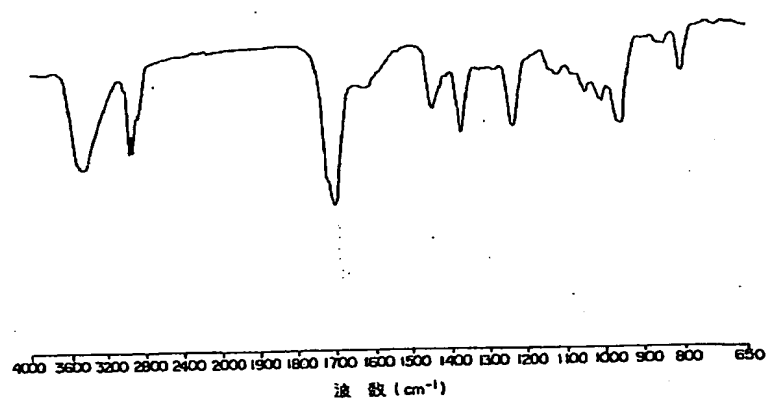
【図1】



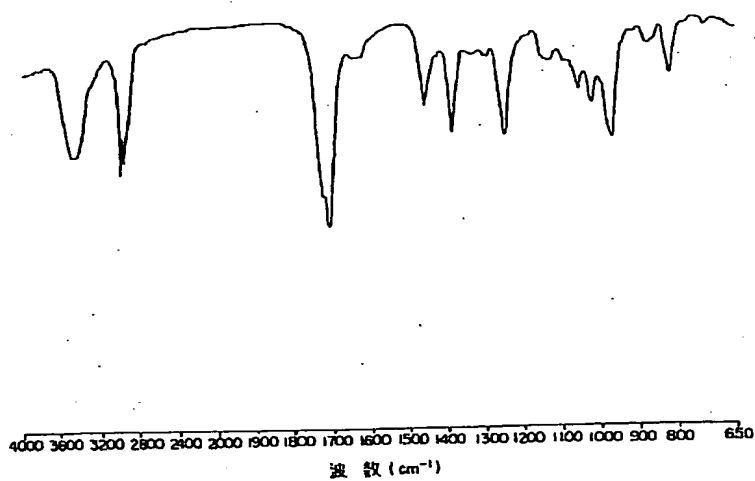
【図2】



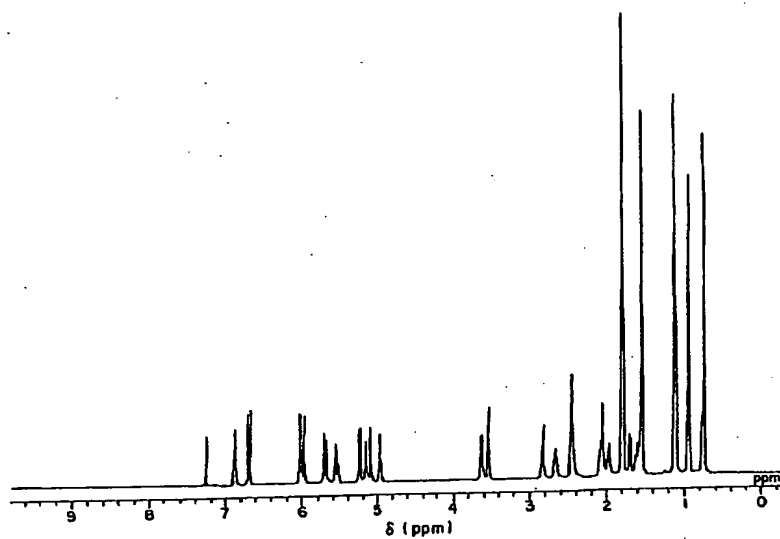
【図3】



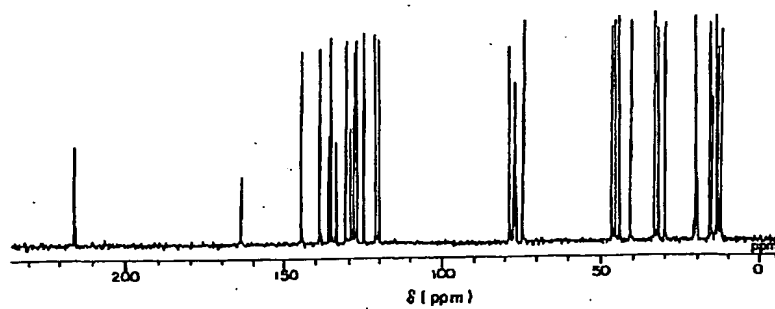
【図4】



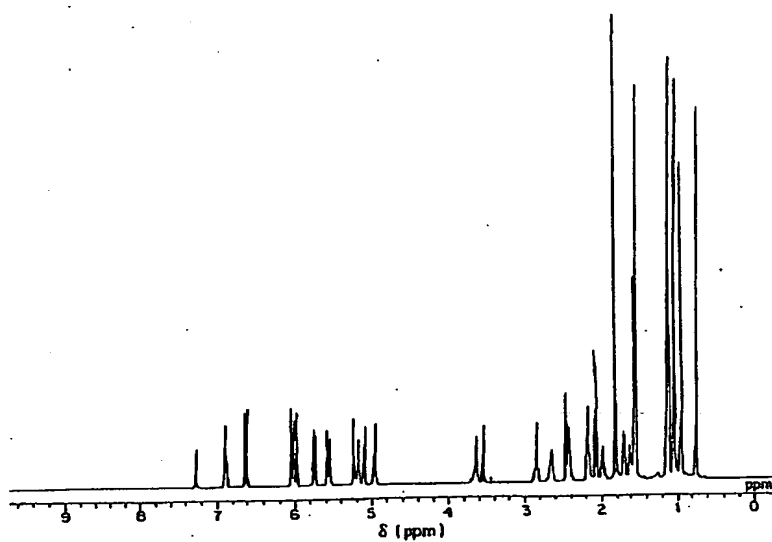
【図5】



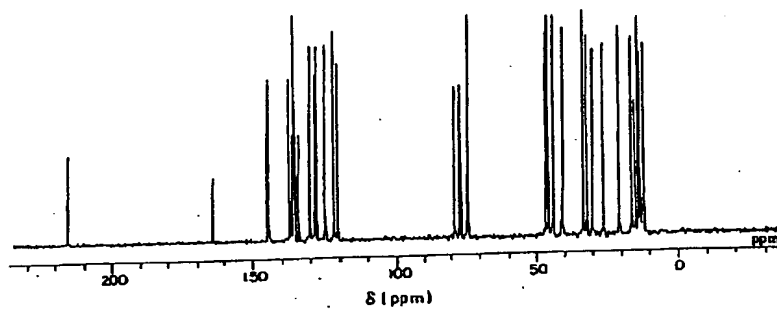
【図7】



【図6】



【図8】



**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☐ FADED TEXT OR DRAWING
- ☐ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☒ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.